

SUIVI D'UTILISATION D'UN VACCIN VIVANT ATTENUÉ CONTRE *SALMONELLA* ENTERITIDIS ET TYPHIMURIUM EN FILIERE CANARDS A FOIE GRAS

Julie Fontaine¹, Xavier Dubord², Thierry Vendrell³

¹RESEAU CRISTAL - Fili@vet - Avenue de la Promenade - 79140 CERIZAY, France

²LABORATOIRE LCV - Z.I. du Plessis Beuscher - 35220 CHATEAUBOURG, France

³LOHMANN ANIMAL HEALTH - Heinz-Lohmann-Str. 4 - 27472 CUXHAVEN

j.fontaine@reseaucristal.fr, x.dubord@laboratoirelcv.com, Thierry.Vendrell@lohmann.de

RÉSUMÉ

La filière française de canards à foie gras est confrontée comme d'autres filières avicoles à des contaminations salmonelliques. Le canard est un porteur sain de salmonelles qu'elles soient « majeures » (*Salmonella* sérovar (ser.) Typhimurium ST et Enteritidis SE) ou « mineures » (*Salmonella* ser. Indiana, Regent...). Un vaccin vivant atténué contre SE et ST a été testé dans des élevages conventionnels de canards mulards destinés à la production de foie gras. Un suivi du portage et de l'excrétion de salmonelles a été mis en place afin de mieux connaître le comportement des souches vaccinales et leurs efficacités pour réduire le portage de salmonelles sauvages. 7 lots de canards ont été suivis (bactériologie, PCR, sérologie) après une vaccination par l'eau de boisson à un jour d'âge. 3 élevages avaient des historiques de présence de salmonelles mineures et 1 lot avait un historique récent de contamination par ST. 3 lots n'avaient pas d'historique récent de présence de salmonelles sur leurs sites d'élevage. Le suivi bactériologique a montré la présence importante de salmonelles mineures dans les organismes et dans l'environnement dès la première semaine de vie (4 élevages sur 7). De plus, il est difficile de retrouver les souches vaccinales dans les organismes (une seule fois sur un pool foie/rate à J+9) et dans l'environnement (une seule fois à J+18). Les souches sauvages masquent probablement les souches vaccinales durant la bactériologie et la survie/portage faible de ces dernières peut expliquer ces résultats. Aucune souche de salmonelle sauvage n'a été détectée dans l'élevage avec historique d'infection par ST. La vaccination n'a pas empêché le portage de salmonelles mineures comme *Salmonella* ser. Indiana (même groupe sérologique que ST) probablement en raison de sa présence dès la première semaine de vie, donc avant la mise en place de l'immunité vaccinale. Un suivi des souches vaccinales en condition terrain devrait utiliser des recherches directes sans étape d'enrichissement. Enfin, la lutte contre les salmonelles doit s'appuyer sur une approche globale. La vaccination permet de diminuer la pression infectieuse rapidement, mais son utilité est limitée si l'environnement est fortement contaminé lors de la mise en place d'un lot.

ABSTRACT

Monitoring of the use of a live attenuated vaccine against *Salmonella enteritidis* and *typhimurium* in the production of "foie gras" ducks

The French sector of foie gras ducks is exposed to *Salmonella* contamination as other poultry species. The duck is a healthy carrier of those *Salmonellae* considered as "major" (*Salmonella* serovar (ser.) Typhimurium and Enteritidis) or "minor" (*Salmonella* ser. Indiana). A live attenuated vaccine against SE and ST was tested in conventional breeding mallard ducks for foie gras production. A *Salmonella* shedding assessment was implemented to better understand the behavior of the vaccine strains and their efficacy to reduce the infecting *Salmonella*. 7 groups of ducks were analyzed (bacteriology, PCR, serology) after vaccination via drinking water at a day old. 3 farms had historical presence of *Salmonella* and a minor lot had a recent history of contamination by *S. typhimurium*. 3 lots had no recent history of *Salmonella* on their breeding sites. Bacteriological monitoring showed the significant presence of *Salmonella* in minor organisms and the environment in the first week of life (4 farms out of 7). Moreover, it was difficult to find the vaccine strains in organ samples (once in liver/spleen pools at D + 9) and the environment (only once at D + 18). Wild strains probably take precedence over the vaccine strains in bacteriology and the attenuation of the vaccine strains may explain these results. No wild strain of *Salmonella* was detected in a flock with history of infection by ST. The vaccine did not prevent the carrying of "minor" *Salmonella* (*Salmonella* ser. Indiana, same serogroup as ST) probably because of their presence in the first week of life, so before the introduction of vaccine immunity. Monitoring of vaccine strains in ground conditions should use direct analysis without an enrichment step. Finally, the fight against *Salmonella* should be based on a comprehensive approach. Vaccination reduces infection pressure more quickly, but in the case of high challenge infection its efficacy can be restricted if no complementary holistic control measures are implemented.

INTRODUCTION

Salmonella sérovar (ser.) Typhimurium (ST) et *Salmonella* ser. Enteritidis (SE) peuvent coloniser l'intestin des canards (particulièrement les caeca) et être excrétés dans les fèces pendant quelques semaines après l'inoculation. La résistance à l'infection et la durée d'excrétion sont plus faibles, plus les canards sont âgés (Barrow, 1999). Un nouveau vaccin vivant atténué contre SE et ST a été étudié lors d'une utilisation dans des élevages commerciaux de canards mulards à foie gras. Ce vaccin est enregistré en France dans le but de réduire, chez des canards destinés à la production de viande, la colonisation des organes internes par des souches de terrain de ST. Cette étude a permis de suivre son administration en filière canards à foie gras et son impact sur l'environnement, à partir d'animaux vaccinés en conditions terrain.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée sur une période de 2 ans (2012-2013) en collaboration avec les vétérinaires du Réseau Cristal.

Vaccin utilisé : Avipro *Salmonella* Duo® (Lohmman Animal Health, n° AMM FR/V/1117434 7/2011) est un vaccin vivant atténué contenant une souche de SE (Sm24/Rif12/Ssq; une dose = $1-8 \times 10^8$ Unités Formant Colonies UFC) et une ST (Nal2/Rif9/Rtt; une dose = $1-6 \times 10^8$ UFC).

Choix des élevages : la vaccination ne résolvant pas les erreurs majeures de biosécurité, tout élevage de canards mulards destiné à la production de foie gras ne respectant pas les règles sanitaires classiques, était exclu du suivi. 3 élevages témoins ont été choisis. Ils ne présentaient pas de mise en évidence de salmonelle par recherche sur chiffonnette à 8 semaines d'âge au cours des 3 derniers lots. 4 autres élevages ont été sélectionnés lorsqu'un prélèvement chiffonnette de contrôle s'avérait positif en salmonelle du sérogroupe B ou D (Grimont, 2007); soient 3 élevages contaminés par *Salmonella* ser. Indiana (SI) et 1 élevage par ST. NB : ST et SI sont classés dans le groupe B et SE dans le groupe D.

Protocole de suivi (Tableau 1) : les canetons ont été vaccinés dès leur arrivée dans l'élevage via l'eau de boisson à raison d'une dose par sujet distribuée durant 2 heures environ, par le vétérinaire responsable sanitaire. Lorsqu'une SE ou ST était isolée en bactériologie, la différenciation entre les souches sauvages et vaccinales était systématiquement réalisée au moyen d'un antibiogramme car contrairement aux souches sauvages, les souches vaccinales sont résistantes à la rifampicine (100 µg pour 1 mL de gélose).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats ont été synthétisés dans le Tableau 1. Dans l'eau vaccinale prélevée en fin de vaccination, 1 à 2 souches vaccinales ont été retrouvées (PCR, bactériologie). Seul un lot a présenté un résultat bactériologique positif en salmonelle vaccinale dans le suivi de J3 à J28 (rates positives en SE vaccinale). D'autres salmonelles de mêmes groupes que les salmonelles vaccinales (groupe B et D) ont parfois été isolées (4/7 lots). Sur les foies des animaux de 10 semaines, aucune salmonelle n'a été mise en évidence et les sérologies *Salmonella* sérovar Gallinarum Pullorum (SGP) ont toutes été négatives.

Dans l'eau de boisson prise en fin de vaccination, on n'a parfois retrouvé qu'une des 2 salmonelles vaccinales: ST vaccinale semble pousser plus facilement en bactériologie classique que SE vaccinale.

Concernant les autres prélèvements, les salmonelles vaccinales semblent difficiles à isoler en bactériologie dans les 3 semaines qui ont suivi la vaccination (SE vaccinale retrouvée une fois seulement à J+9 sur un pool de 10 rates et ST vaccinale une seule fois à J+18 d'une paire de pédichiffonnette faite dans un bâtiment) alors que selon le dossier d'AMM, SE vaccinale peut être excrétée jusqu'à 14 jours d'âge et ST vaccinale jusqu'à 28 jours d'âge (RCP Avipro *Salmonella* Duo). Quand il y a des positivités en salmonelles autres que SE ou ST, on peut supposer qu'il y a une compétition sur les cultures bactériologiques qui contribuent à ce résultat. Nous avons réalisé une PCR toutes *Salmonelles* (iQ-Check *Salmonella* II®, Biorad) complémentaire sur des prélèvements négatifs en bactériologie, qui a permis de mettre en évidence des salmonelles (salmonelles mortes, vaccinales?) que la bactériologie classique n'avait pas réussi à faire pousser. La vaccination ne semble pas apporter de protection croisée aux autres salmonelles de mêmes groupes que les salmonelles vaccinales (groupe B et D): en effet, malgré la vaccination, un portage est possible de *Salmonella* ser. Regent, *Salmonella* ser. Saintpaul ou *Salmonella* ser. Indiana. Notons cependant que l'immunité recherchée par la vaccination ne peut être optimale dès les premiers jours. Il faut donc éviter toutes contaminations salmonelles avant la mise en place de cette immunité si on veut avoir la meilleure efficacité vaccinale possible. Sur le site historiquement contaminé par ST, on peut supposer que la vaccination a été efficace car aucune souche de ST n'a pu être détectée.

En aucun cas les salmonelles vaccinales n'ont occasionné une séroconversion croisée pour SGP ou une PCR toutes salmonelles positive à partir d'animaux de 8 semaines d'âge. L'innocuité est très bonne: pas de réaction vaccinale (selon suivi vétérinaire), très peu de rémanence des souches vaccinales chez les canards (un unique isolement de

SE vaccinale à J+9) et peu de diffusion dans leur environnement (une seule fois : ST vaccinale à J+18 à partir de pédichiffonnette).

CONCLUSION

Il est primordial d'assurer un audit avant la vaccination d'un lot de canard à foie gras, afin de s'assurer de la qualité du nettoyage et de la désinfection effectués au vide sanitaire, ainsi que de la mise en place des barrières sanitaires de biosécurité. La vaccination contre SE et ST en filière palmipèdes à

foie gras n'est efficace que dans de telles conditions. Un travail plus précis sur le comportement des salmonelles vaccinales dans l'espèce mulard serait intéressant (modalités d'implantation digestive, durée d'excrétion...). Pour cela, la recherche directe (sans étape d'enrichissement : eau peptonée tamponnée puis isolement sur gélose BPLS agar avec rifampicine) pourrait améliorer la mise en évidence des souches vaccinales pouvant être masquées par la présence simultanée de salmonelles sauvages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. RCP d'Avipro Salmonella Duo®.
2. Barrow P.A., 1999. Epidemiology and Infection, Vol 123, 121-132.
3. Grimont P.A.D., 2007. Centre collaborateur OMS de référence et de recherches sur les Salmonella.

Tableau 1. Protocole et résultats du suivi des salmonelles sauvages et vaccinales

	Nombre	Prélèvements / Age (J)	Résultats bactériologiques (nombre de résultats positifs en salmonelles sur nombre de sites testés)						
			0	2	6-9	15-18	21	28-33	60-80
Sites sans historique récent de contamination salmonellique	3	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/3 (avant mise en place)			2/3 (<i>S. enterica</i> autre que SE/ST ou <i>S. Regent</i>)		2/2 (<i>S. Kottbus</i> ou <i>S. Regent</i>)	
		chiffonnette environnement (1)	1/1 (Si sortie du silo d'aliment)						
		fonds de boîte (pool de 5)	0/3						
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 1/3; ST 3/3						
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		1/1 (<i>S. Regent</i>)	1/2 (<i>S. enterica</i> séro groupe C + SI)			1/1 (SI)	
		foie-rate (pool de 10)		1/1 (<i>S. Regent</i>)	1/2 (<i>S. Regent</i> + <i>S. Saintpaul</i>)				0/3
		sérologie SGP (20)							0/3
		PCR salmonelles sur foie-rate (2)		0/1					0/3
Sites avec historique récent de contamination par SI	3	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/2 (avant mise en place)		0/2	2/2 (un cas SI et l'autre SI+ST vaccinale)	0/2	1/1 (SI)	
		chiffonnette environnement (1)			0/2 (intérieur bâtiment)			1/1 (SI parcours extérieur)	
		fonds de boîte (pool de 5)	0/3						
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 3/3; ST 3/3						
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		0/1	1/1 (SI)	1/1 (SI)	0/2		
		foie-rate (pool de 10)		0/1	2/2 (un cas SI et l'autre SE vaccinale)				1/1 (SI)
Site avec historique récent de contamination par ST	1	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/1 (avant mise en place)			0/1		0/1	
		fonds de boîte (pool de 5)	0/1 (+négatif sur pool foie-vitellus-rate)						
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 1/1; ST 1/1						
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		0/1					
		foie-rate (pool de 10)		0/1					0/1
		PCR salmonelles sur foie-rate (2)		1/1 (souches vaccinales?)					0/1



SUIVI D’UTILISATION D’UN VACCIN VIVANT ATTENUÉ CONTRE SALMONELLA ENTERITIDIS ET TYPHIMURIUM EN FILIERE CANARDS A FOIE GRAS

Julie FONTAINE¹, Xavier DUBORD², Thierry Vendrell³

1 Réseau Cristal – Fili@vet - 79140 CERIZAY, France, 2 Laboratoire Lcv - 35221 CHATEAUBOURG, France, 3 Lohmann animal health - Heinz-Lohmann-Str. 4 - 27472 CUXHAVEN, Allemagne

INTRODUCTION

Salmonella sérovar (ser.) Typhimurium (ST) et Salmonella ser. Enteritidis (SE) peuvent coloniser l'intestin des canards (particulièrement les caeca) et être excrétés dans les fèces pendant quelques semaines après l'inoculation. La résistance à l'infection et la durée d'excrétion sont plus faibles, plus les canards sont âgés (Barrow, 1999). Un nouveau vaccin vivant atténué contre SE et ST a été étudié lors d'une utilisation dans des élevages commerciaux de canards mulards à foie gras. Ce vaccin est enregistré en France dans le but de réduire, chez des canards destinés à la production de viande, la colonisation des organes internes par des souches de terrain de ST. Cette étude a permis de suivre son administration en filière canards à foie gras et son impact sur l'environnement, à partir d'animaux vaccinés en conditions terrain.

MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée sur une période de 2 ans (2012-2013) en collaboration avec les vétérinaires du Réseau Cristal.

Vaccin utilisé

Avipro Salmonella Duo® (Lohmann Animal Health, n° AMM FR/V/1117434 7/2011) est un vaccin vivant atténué contenant une souche de SE (Sm24/Rif12/Ssq; une dose = 1- 8x108 Unités Formant Colonies UFC) et une ST (Nal2/Rif9/Rtt; une dose = 1- 6x108 UFC).

Choix des élevages

La vaccination ne résolvant pas les erreurs majeures de biosécurité, tout élevage de canards mulards destiné à la production de foie gras ne respectant pas les règles sanitaires classiques, était exclu du suivi. 3 élevages témoins ont été choisis. Ils ne présentaient pas de mise en évidence de salmonelle par recherche sur chiffonnette à 8 semaines d'âge au cours des 3 derniers lots. 4 autres élevages ont été sélectionnés lorsqu'un prélèvement chiffonnette de contrôle s'avérait positif en salmonelle du séro groupe B ou D (Grimont, 2007) ; soient 3 élevages contaminés par Salmonella ser. Indiana (SI) et 1 élevage par ST. NB : ST et SI sont classés dans le groupe B et SE dans le groupe D.

Protocole de suivi (Tableau 1)

Les canetons ont été vaccinés dès leur arrivée dans l'élevage via l'eau de boisson à raison d'une dose par sujet distribuée durant 2 heures environ, par le vétérinaire responsable sanitaire. Lorsqu'une SE ou ST était isolée en bactériologie, la différenciation entre les souches sauvages et vaccinales était systématiquement réalisée au moyen d'un antibiogramme car contrairement aux souches sauvages, les souches vaccinales sont résistantes à la rifampicine (100 µg pour 1 mL de gélose).

Tableau 1. Protocole et résultats du suivi des salmonelles sauvages et vaccinales

Nom bre		Résultats bactériologiques (nombre de résultats positifs en salmonelles sur nombre de sites testés)						
		Prélèvements / Age (J)	0	2	6-9	15-18	21	28-33
Sites sans historique récent de contamination salmonellique	3	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/3 (avant mise en place)			2/3 (S. enterica autre que SE/ST ou S. Regent)	2/2 (S. Kottbus ou S. Regent)	
		chiffonnette environnement (1)	1/1 (SI sortie du silo d'aliment)					
		fonds de boîte (pool de 5)	0/3					
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 1/3; ST 3/3					
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		1/1 (S. Regent)	1/2 (S. enterica séro groupe C + SI)		1/1 (SI)	
		foie-rate (pool de 10)		1/1 (S. Regent)	1/2 (S. Regent+ S. Saintpaul)			0/3
		sérologie SGP (20)						0/3
Sites avec historique récent de contamination par SI	3	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/2 (avant mise en place)		0/2	2/2 (un cas SI et l'autre SI+ST vaccinale)	0/2	1/1 (SI)
		chiffonnette environnement (1)			0/2 (intérieur bâtiment)		1/1 (SI parcours extérieur)	
		fonds de boîte (pool de 5)	0/3					
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 3/3; ST 3/3					
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		0/1	1/1 (SI)	1/1 (SI)	0/2	
		foie-rate (pool de 10)		0/1	2/2 (un cas SI et l'autre SE vaccinale)			1/1 (SI)
		foie-rate (pool de 10)						
Site avec historique récent de contamination par ST	1	pédichiffonnette bâtiment/sas (1 paire)	0/1 (avant mise en place)			0/1	0/1	
		fonds de boîte (pool de 5)	0/1 (+négatif sur pool foie-vitellus-rate)					
		eau vaccinale (50 mL)	Souches vaccinales: SE 1/1; ST 1/1					
		écouvillons cloacaux (pool de 10)		0/1				
		foie-rate (pool de 10)						
		foie-rate (pool de 10)		0/1 (souches vaccinales?)				0/1
		PCR salmonelles sur foie-rate (2)						0/1

RESULTATS

Les résultats ont été synthétisés dans le Tableau 1. Dans l'eau vaccinale prélevée en fin de vaccination, 1 à 2 souches vaccinales ont été retrouvées (PCR, bactériologie). Seul un lot a présenté un résultat bactériologique positif en salmonelle vaccinale dans le suivi de J3 à J28 (rates positives en SE vaccinale). D'autres salmonelles de mêmes groupes que les salmonelles vaccinales (groupe B et D) ont parfois été isolées (4/7 lots). Sur les foies des animaux de 10 semaines, aucune salmonelle n'a été mise en évidence et les sérologies Salmonella sérovar Gallinarum Pullorum (SGP) ont toutes été négatives.

DISCUSION

Dans l'eau de boisson prise en fin de vaccination, on n'a parfois retrouvé qu'une des 2 salmonelles vaccinales: ST vaccinale semble pousser plus facilement en bactériologie classique que SE vaccinale.

Concernant les autres prélèvements, les salmonelles vaccinales semblent difficiles à isoler en bactériologie dans les 3 semaines qui ont suivi la vaccination (SE vaccinale retrouvée une fois seulement à J+9 sur un pool de 10 rates et ST vaccinale une seule fois à J+18 à partir d'une paire de pédichiffonnette faite dans un bâtiment) alors que selon le dossier d'AMM, SE vaccinale peut être excrétée jusqu'à 14 jours d'âge et ST vaccinale jusqu'à 28 jours d'âge (RCP Avipro Salmonella Duo). Quand il y a des positivités en salmonelles autres que SE ou ST, on peut supposer qu'il y a une compétition sur les cultures bactériologiques qui contribuent à ce résultat. Nous avons réalisé une PCR toutes Salmonelles (iQ-Check Salmonella II®, Biorad) complémentaire sur des prélèvements négatifs en bactériologie, qui a permis de mettre en évidence des salmonelles (salmonelles mortes, vaccinales?) que la bactériologie classique n'avait pas réussi à faire pousser. La vaccination ne semble pas apporter de protection croisée aux autres salmonelles de mêmes groupes que les salmonelles vaccinales (groupe B et D) : en effet, malgré la vaccination, un portage est possible de Salmonella ser. Regent, Salmonella ser. Saintpaul ou Salmonella ser. Indiana. Notons cependant que l'immunité recherchée par la vaccination ne peut être optimale dès les premiers jours. Il faut donc éviter toutes contaminations en salmonelles avant la mise en place de cette immunité si on veut avoir la meilleure efficacité vaccinale possible. Sur le site historiquement contaminé par ST, on peut supposer que la vaccination a été efficace car aucune souche de ST n'a pu être détectée.

En aucun cas les salmonelles vaccinales n'ont occasionné une séroconversion croisée pour SGP ou une PCR toutes salmonelles positive à partir d'animaux de 8 semaines d'âge. L'innocuité est très bonne : pas de réaction vaccinale (selon suivi vétérinaire), très peu de rémanence des souches vaccinales chez les canards (un unique isolement de SE vaccinale à J+9) et peu de diffusion dans leur environnement (une seule fois : ST vaccinale à J+18 à partir de pédichiffonnette).

CONCLUSION

Il est primordial d'assurer un audit avant la vaccination d'un lot de canard à foie gras, afin de s'assurer de la qualité du nettoyage et de la désinfection effectués au vide sanitaire, ainsi que de la mise en place des barrières sanitaires de biosécurité. La vaccination contre SE et ST en filière palmipèdes à foie gras n'est efficace que dans de telles conditions. Un travail plus précis sur le comportement des salmonelles vaccinales dans l'espèce mulard serait intéressant (modalités d'implantation digestive, durée d'excrétion...). Pour cela, la recherche directe (sans étape d'enrichissement : eau peptonée tamponnée puis isolement sur gélose BPLS agar avec rifampicine) pourrait améliorer la mise en évidence des souches vaccinales pouvant être masquées par la présence simultanée de salmonelles sauvages.

REFERENCES

- RCP d'Avipro Salmonella Duo®.
- Barrow P.A., 1999. Epidemiology and Infection, Vol 123, 121-132.
- Grimont P.A.D., 2007. Centre collaborateur OMS de référence et de recherches sur les Salmonella.